

于在实验教学中引入双语教学,在实验结束后双语班同学普遍反映英语表达能力较开始有明显提高。更为重要的是由于实验双语教学与理论双语教学同步进行,二者互相配合,使病理生理学的双语教学效果明显优于单纯的理论双语教学。

3 讨 论

双语教学是一种蕴涵着全新教育理念的教学形式,是我国高等教育改革的一项新举措,但目前国内双语教学的开展主要局限于理论教学,很少在实验教学中开展双语教学,在医学实验教学中尤其如此^[7]。医学教育是一门实践性教育,大量的实验配合理论学习,实验教学与理论教学紧密联系,互相影响。如果单纯在理论教学中开展双语教学,往往会形成独木难支的局面,而如果在理论和实验中配合使用双语教学,则可以互相促进,互相弥补而有事半功倍的效果。

但开展实验双语教学首先要明确双语教学只是一种教学手段,其目的在于通过使用英语进行教学使专业与英语同步提高。病理生理学实验教学的首要目的依然是通过实践使学生掌握相关的操作技能,其次才是语言的提高与应用。因此,双语教学不能削弱教学目的,在实验教学中应始终以实验为中心,绝不能因为听英语、讲英语而忽略了实验,如果是这样,那就是本末倒置,得不偿失。

任何事物都有其自身发展的规律,实验教学也是一样^[8],如果各专业教师在进行实验带教时根据各自学科特点适当引进双语内容,将会形成双语教学的连锁效应,这既有利于提高双语教学效果,又有利于更多学科开展双语教学。

参考文献

- [1] 刘辉琦,马建忠,刘杰,等.病理生理学双语教学的实践与探讨[J].医学教育探索,2010,9(18):1528-1529.
- [2] 李铭,张虹,袁改霞,等.人体及动物生理学实验双语教学的实践与探讨[J].高师理科学刊,2010,30(5):103-105.
- [3] 胡水清,张玫,樊洁,等.多媒体-双语教学在临床内科学中的应用和探索[J].重庆医学,2011,40(3):306-307.
- [4] 吴玉,薛大东,刘运胜,等.医学多媒体教学资源库的设计与建设[J].中华医学教育探索杂志,2011,10(5):628-629.
- [5] 秦燕,李耀华,吴建新,等.医学本科生机能学实验双语教学探索[J].中华医学教育探索杂志,2011,10(8):963-965.
- [6] 江东,江西.基础化学实验教学应双语化[J].广东化工,2011,38(9):186-187.
- [7] 钟富有,何珏,刘振优.医学实验双语教学的研究探讨[J].赣南医学院学报,2008,28(5):687.
- [8] 李健,苗绪红,李光.七年制医学生细胞生物学实验双语教学的实践与思考[J].山西医科大学学报:基础医学教育版,2007,9(4):465-466.

(收稿日期:2013-07-23 修回日期:2013-09-26)

利用实验动物制备肥达反应阳性抗血清的研究*

田兆菊,马玉红,田景惠,焦凤萍(泰山医学院公共卫生学院临床免疫学教研室,山东泰安 271016)

【摘要】 目的 建立肥达反应阳性实验结果,帮助学生理解肥达反应的原理、操作方法、结果判断及临床意义。**方法** 将肥达反应的 5 种诊断菌液适当处理后,按照一定程序免疫家兔,然后采集全血,分离免疫血清,采用直接试管凝集实验检测凝集效价。**结果** 在免疫的 50 只家兔中,5 种免疫血清的凝集效价达到 1:1 280 以上的有 41 只,占 82%;30 只家兔的血清效价达到 1:2 560,占 60%。**结论** 获得了高效价的肥达反应的阳性抗血清,为医学专业学生实验教学中正常开展该项实验奠定了基础。

【关键词】 实验动物; 肥达反应; 免疫血清

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.02.068 文献标志码:C 文章编号:1672-9455(2014)02-0272-02

肥达反应是微生物学和免疫学检验中一项重要的实验项目之一,临床上用于伤寒和副伤寒的实验室诊断,是医学专业学生,尤其是医学检验专业学生必做的实验项目。近年来,随着卫生条件的改善及抗菌药物的广泛应用,伤寒和副伤寒病的发病率大幅度下降且症状也逐渐不典型,偶有暴发流行则多由于水源或者食物污染引起^[1-3],也有儿童出现肥达反应阳性的报道^[4],但是患者有限的血清往往不够众多学生做实验用。因此,要取得该阳性血清实属不易,且在实验过程中存在病原体散播使学生受感染的危险^[5]。现将本研究采用直接试管凝集实验检测抗血清的凝集效价报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 5 月龄家兔(新西兰大白兔),平均体重 2~3 kg。

1.2 仪器与试剂 电热恒温水浴箱(HHW 420-600 型,金坛市科技仪器有限公司);冰箱(购自河南新飞电器有限公司);肥

达反应诊断菌液(购自宁波天润生物药业有限公司,包括伤寒杆菌 H901、O901 诊断菌液、甲型、乙型和丙型副伤寒杆菌的诊断菌液);无菌生理盐水(购自北京鑫四环消毒技术开发有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 免疫原的制备 无菌操作取肥达反应的 5 种诊断菌液各 5 mL 于灭菌离心管中,12 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,菌体用 5 mL 灭菌生理盐水重悬后,12 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,重复上述操作,将菌液反复洗涤 3 次,最后将细菌沉淀用灭菌生理盐水稀释成 10^9 cfu/mL 作为免疫原,备用。

1.3.2 动物的免疫 免疫前,首先采集家兔静脉血;进行耳缘静脉采血每只 2~3 mL,加入塑料试管,37℃温育 40 min,2 000 r/min 离心 5 min,分离血清,分别装于 EP 管中,于-20℃保存,作为阴性对照血清,然后按表 1 方法免疫家兔,每种菌液免疫家兔 10 只。末次免疫家兔 7 d 后,耳静脉采血 1 mL,分

* 基金项目:泰山医学院教育教学研究课题(XY2011017)。

离血清,用试管凝集反应检测抗血清凝集效价,效价达 1:320 以上可采血。

表 1 家兔免疫程序

项目	第 1 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天
免疫剂量(mL)	0.5	1.5	2.0	1.0
免疫途径	颈背部皮下 颈背部皮下 颈背部皮下 耳缘静脉			

注:免疫原均为 10⁹ cfu/mL 菌液。

1.3.3 免疫血清的收集 采用心脏采血法:将家兔仰卧固定,于心脏搏动明显处(约在左侧胸骨的第 3 肋间)将注射器针头垂直刺入,进针深度与家兔大小有关,如已刺入心脏则可见血液涌出,固定注射器采血。一般每只家兔可采血 30~50 mL,37℃温育 40 min,2 000 r/min 离心 5 min,分离血清,分别装于 EP 管中,于-20℃保存,备用。

1.3.4 免疫血清效价的测定^[6](直接试管凝集试验)

1.3.4.1 免疫血清的稀释 先将 5 种免疫血清分别进行 1:10 稀释:分别取洁净小试管 5 支,每支试管均加入生理盐水 9.5 mL 和待测免疫血清(依次为伤寒杆菌 H、O 诊断菌液的免疫血清,甲型、乙型和丙型副伤寒杆菌的 H 诊断菌液的免疫血清)各 0.5 mL。再将待测血清进行倍比稀释:另取洁净小试管 45 支,分 5 排,每排 9 支,依次编号。于各试管中分别加入生理盐水 0.5 mL,然后在每排试管的第一支试管中分别加入上述稀释的待测免疫血清各 0.5 mL,即 1~5 排依次为伤寒杆菌 H、O 诊断菌液的免疫血清,甲型、乙型和丙型副伤寒杆菌的 H 诊断菌液的免疫血清,充分混匀,尔后吸出 0.5 mL 注入第 2 管,同法混匀后吸出 0.5 mL 注入第 3 管。依次类推,稀释到第 7 管,自第 7 管吸出 0.5 mL 弃去。然后于每排的第 8 支试管中分别加入免疫前血清 0.5 mL,第 9 管不加血清。

1.3.4.2 菌液的稀释 取 5 种诊断菌液,混匀,各取 0.5 mL 分别加入 5 支试管中,每支试管中各加生理盐水 4.5 mL。

1.3.4.3 凝集反应 分别取稀释的诊断菌液 0.5 mL 加入 1~5 排试管中,振荡试管架,混匀,于 37℃温育过夜,轻摇试管,观察有无凝集。

1.3.4.4 结果判定 先观察第 8、9 支对照试管,无凝集现象时,再观察其余各试验管的凝集现象,凝集程度以“+~++++”多少表示。以出现“++”凝集现象的血清最高稀释倍数为该血清的凝集效价。

2 结 果

在免疫的 50 只家兔中,5 种免疫血清的凝集效价达到 1:1 280 以上的有 41 只(82%);30 只家兔的血清效价达到 1:2 560,占 60%。见表 2。

表 2 家兔免疫血清效价[n(%)]

凝集效价	伤寒杆菌 H901	伤寒杆菌 O901	甲型副 伤寒杆菌	乙型副 伤寒杆菌	丙型副 伤寒杆菌
1:640	1(10)	2(20)	3(30)	2(20)	1(10)
1:1 280	3(30)	2(20)	2(20)	1(20)	3(30)
1:2 560	6(60)	6(60)	5(50)	7(70)	6(60)

3 讨 论

肥达反应迄今仍然是诊断伤寒和副伤寒的重要实验室指标^[7],是比较经典的传统凝集实验方法之一。在医学专业尤其是医学检验专业本科生中开展该项实验,对学生正确理解并掌握肥达反应的原理、操作方法和结果判断的临床意义具有非常

重要的指导作用。

由于肥达反应的诊断菌液中存在防腐剂,为防止免疫实验动物后出现不良后果,本实验中将诊断菌液用生理盐水进行多次洗涤。另外,在吸取和洗涤菌液的过程中,采用无菌操作,所用离心管和洗涤液均为高压灭菌的物品,保证了免疫家兔的菌液是无菌的,为动物实验的顺利完成提供了技术支持。

为了提高免疫血清的效价,本研究通过反复实验,制订了一套比较科学的免疫程序,采用 4 次免疫家兔,并且每次的免疫途径、免疫剂量和间隔时间不尽相同。第 1 次免疫剂量稍小,目的是避免家兔出现免疫耐受现象,且采用颈背部皮下注射,目的是延缓免疫原的释放速度,可持续刺激家兔,产生较好的免疫效果;同时,在免疫间隔方面,第 1 次与第 2 次免疫间隔尤为重要,一般以 10~20 d 为佳^[8],选择 14 d,二次免疫后的间隔时间为 7 d,可有效地提高免疫效果。另外,为了确保获得高效价的免疫血清,在末次免疫 7 d 后先进行试血,检测血清效价在 1:320 以上再正式采血,收集血清,对收集的血清进行分装冻存,每次使用时仅取出一小管,避免血清反复冻融而影响效价;每只家兔至少可采血 50 mL,分离血清达 30 mL,每次实验时可免疫多只家兔,如果按照每个实验组使用 0.5 mL 阳性血清计算的话,每只家兔的血清至少可满足 60 个实验组使用,因此,在血清保存方法得当的前提下,采用家兔获得的免疫血清可以满足多个学期的学生使用,完全可以解决阳性血清来源困难的问题。

在观察肥达反应的凝集结果时,应首先观察第 8、9 对照试管,对照试管无凝集现象后,再观察其余各试验管的凝集现象。观察时,应轻摇试管,避免用力过大而将正常的凝集颗粒或絮状沉淀摇开,影响效价的正确判断。临床上肥达反应的凝集效价在 1:80 以上可判为阳性,本实验中获得的阳性血清效价高达 1:1 280 以上,远高于临床的阳性标本,为学生提供了很好的观察阳性结果的机会。

总之,获得肥达反应的高效价阳性免疫血清,为医学专业学生顺利开展肥达反应奠定了基础,适于各医学院校在进行肥达反应实验教学时推广使用。

参考文献

[1] 卢明秀. 56 例伤寒临床分析[J]. 中国医学工程, 2012, 20 (6): 143.

[2] 黄革, 李建明. 2010 年罗城县城区一起甲型副伤寒暴发疫情调查[J]. 预防医学论坛, 2013, 19(1): 30-32.

[3] 崔敏丽, 林玲, 陈燕梅, 等. 2007 年自贡市食源性沙门菌菌型分布及药敏结果分析[J]. 检验医学与临床, 2008, 5 (12): 1434-1435.

[4] 蔡贤莉. 小儿伤寒与肥达反应的探讨[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(10): 936-937.

[5] 陈惠业. 肥达氏反应的替代方法[J]. 实用医技杂志, 2007, 14(17): 2380-2381.

[6] 刘辉. 临床免疫学检验实验指导[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 18-20.

[7] 霍立新. 肥达反应试验的快速法[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(5): 431.

[8] 王兰兰, 许化溪. 临床免疫学检验[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 18-26.